

# Regenvastheid van zwavel

P.F. de Jong, G. Scholten, R.H.N. Anbergen, B. Heijne

Praktijkonderzoek Plant & Omgeving B.V.  
Fruit  
Mei 2004

Rapportnummer 2004-16

© 2004 Wageningen, Praktijkonderzoek Plant & Omgeving B.V.

Alle rechten voorbehouden. Niets uit deze uitgave mag worden vervoelvoudigd, opgeslagen in een geautomatiseerd gegevensbestand, of openbaar gemaakt, in enige vorm of op enige wijze, hetzij elektronisch, mechanisch, door fotokopieën, opnamen of enige andere manier zonder voorafgaande schriftelijke toestemming van Praktijkonderzoek Plant & Omgeving.

Praktijkonderzoek Plant & Omgeving B.V. is niet aansprakelijk voor eventuele schadelijke gevolgen die kunnen ontstaan bij gebruik van gegevens uit deze uitgave.

PPO Publicatienr. 2004-16; € 15,-



Projectnummer: 610 131 42

PT nummer: 36250

**Praktijkonderzoek Plant & Omgeving B.V.**

Fruit

Adres : Lingewal 1, 6668 LA, Randwijk

: Postbus 200, 6670 AE Zetten

Tel. : 0488 47 37 00

Fax : 0488 47 37 17

E-mail : [infofruit.ppo@wur.nl](mailto:infofruit.ppo@wur.nl)

Internet : [www.ppo.wur.nl](http://www.ppo.wur.nl)

# Inhoudsopgave

pagina

SAMENVATTING .....	5
1 INLEIDING .....	7
2 MATERIAAL EN METHODEN .....	9
2.1 Korte proefbeschrijving .....	9
2.2 Uitgangsmateriaal.....	9
2.3 Hoeveelheid regen tegenover de effectiviteit van zwavel .....	9
2.4 Bepaling van effectiviteit van zwavel bij 8°C .....	11
2.5 Zwavel residu analyse .....	11
2.5.1 Recovery van Thiovit Jet.....	11
2.5.2 Bepaling van residu zwavel op blad in 2002 en 2003 .....	12
2.6 Statistische analyse .....	12
3 RESULTATEN .....	13
3.1 Resultaten 2002.....	13
3.2 Resultaten 2003.....	15
3.2.1 Effectiviteit bij 8 °C.....	15
3.2.2 Recovery van Thiovit Jet.....	16
3.2.3 Afregenproef met Thiovit Jet.....	16
4 DISCUSSIE .....	19
4.1 Meeldauw.....	19
4.2 Zwavelbedekking .....	19
4.3 Effectiviteit van zwavel .....	19
4.4 Zwavelanalyse .....	19
4.5 Opmerkingen gewasbeschermingsmiddelen.....	20
5 CONCLUSIES .....	21
5.1 Conclusies 2002 .....	21
5.2 Conclusies 2003 .....	21
6 REFERENTIES.....	23
BIJLAGE I 'ILLUSTRATIES' .....	25
BIJLAGE II 'OPSTELLING' .....	27
BIJLAGE III 'VOLLEDIGE DATASET' .....	29
Biotoets 2002.....	29
Zwavelanalyse 2002 .....	29
Effectiviteit bij 8°C op M9 bomen 2003 .....	30
Kieming bij 8°C op agar 2003.....	30
Biotoets afregenproef 2003 .....	30
Zwavel analyse 2003 .....	31
Recovery 2003 .....	31

BIJLAGE IV 'STATISTISCHE ANALYSE' .....	35
Biotoets Afregenproef 2002 .....	35
Hoeveelheid zwavel 2002.....	35
Effectiviteit bij 8°C op M9 bomen 2003 .....	36
Kieming bij 8°C op agar 2003.....	36
Biotoets Afregenproef 2003 .....	37
Hoeveelheid zwavel 2003.....	39
BIJLAGE V 'ROUTEBSCHRIJVING' .....	41

## Samenvatting

Binnen de biologische fruitteelt is het aantal gewasbeschermingsmiddelen dat toegepast mag worden zeer beperkt. De meest belangrijke ziekte waar tegen bestreden moet worden, is schurft (*Venturia inaequalis*). Het middel zwavel is het meest toegepaste fungicide dat op dit moment wordt ingezet op appel. Doordat het in vergelijking met gangbare middelen een zwak middel is, moet het vaak gespoten worden. Om in de biologische fruitteelt de hoeveelheid actieve stof te verlagen, zal zwavel zo optimaal mogelijk ingezet moeten worden. Schurftwaarschuwingssystemen kunnen hier een helpende hand bij bieden. Voor het optimaal functioneren van de programma's ontbreken echter een aantal gegevens. Dit is met name de regenvastheid van zwavel. In 2002 en 2003 werd daarom de regenvastheid van zwavel bepaald. Het doel was te bepalen bij welke hoeveelheid regen (in mm's) de werking van zwavel niet meer acceptabel is. De zwavel dat werd getest, was Thiovit Jet (2002 en 2003).

Opgepote bomen werden in 2002 met zwavel (4 kg/1000 l) bespoten waarna een gedeelte berekend werd met verschillende hoeveelheden regen. De bomen werden daarna geïnoculeerd bij 18 °C met schurftconidiën. Na twee weken werden de bomen op schurftsymptomen beoordeeld. Daarnaast werden bladeren geplukt waarvan de overgebleven zwavelresiduen geanalyseerd werden. In 2003 werd de proef herhaald met een aantal aanpassingen. De concentratie zwavel werd verhoogd van 4 kg naar 6 kg, verder werd de infectie uitgevoerd bij 8 °C. Wederom werd het residu van zwavel bepaald op het blad.

In beide jaren bleek dat 5 mm regen een verdubbeling gaf van de aantasting met schurft in vergelijking met 0 mm regen. Zwavel gaf geen voldoende bescherming tegen schurft bij deze zware infectie en een dosis van 4/6 kg zwavel per hectare en geen regen. Zwavel bleek wel een werking te hebben bij 8 °C zowel op M9 bomen als op agarschalen.

Het is gebleken dat met behulp van de High Performance Liquid Chromatography (HPLC) zwavel aan te tonen is op het blad. Bij de zwavelanalyses werd een afname gevonden in de hoeveelheid zwavel na beregening. Bij 40 mm regen was nog niet al de zwavel van het blad gespoeld. De hoeveelheid zwavel nam wel langzamer af dan de effectiviteit tegen schurft. Mogelijk heeft de hoeveelheid zwavel niet het grootste effect op de effectiviteit maar spelen mogelijk de korrelgrootteverdeling een grotere rol.



# 1 Inleiding

Binnen de biologische fruitteelt is het aantal middelen dat toegepast mag worden zeer beperkt. De meest belangrijke ziekte waartegen bestreden moet worden, is schurft (*Venturia inaequalis*). Het middel zwavel is het meest toegepaste fungicide dat op dit moment wordt ingezet op appel. Doordat het in vergelijking met gangbare middelen een zwak middel is, moet het vaak gespoten worden.

Elementaire zwavel concurreert met zuurstof om de waterstof ionen in de energiestofwisseling van de kiemende schimmelspore. Zwavel activeert de stofwisseling veel meer dan zuurstof; er ontstaat een soort overactiviteit, waaraan de cel ten onder gaat. De verbranding van glucose wordt versneld en de celgroei geremd, waardoor de spore niet kan kiemen. Hierbij ontstaat het giftige zwavel waterstof dat voor allerlei neveneffecten zorgt, van fotosyntheseremming tot bladverbranding. Een deel van de zwavelwaterstof wordt snel weer tot het minder giftige zwaveldioxide omgezet (McCallan, 1954 en Tweedy, 1981).

Als de schurft schimmeldraden onder de cuticula (waslaag) gegroeid zijn, heeft zwavel geen effect meer. De fungicide-werking beperkt zich tot de buitenkant van het blad. De waslaag op het blad verhindert dat zwavel bij de schimmel komt. Dit verklaart de uitsluitend preventieve werking op schurft. Andere soorten schimmels, die met hun schimmeldraden meer aan de buitenkant van de plant leven, zoals meeldauw en graanroest, kunnen wel gedood worden. Bij meeldauw en graanroest werkt zwavel ook curatief. Zwavel kan door direct contact met de schimmelspore werken, maar ook als zwaveldamp over enige afstand (Blokma, 1993).

- De contactwerking doodt snel en is groter naarmate de deeltjes klein en goed verdeeld zijn. Vanaf 10°C heeft de zwavel een contactwerking. Zwavelkorrels worden niet door het blad opgenomen (Blokma, 1993).
- De dampwerking is veel trager, de verdamping is sterk afhankelijk van de temperatuur (vanaf 15 toenemend tot 35°C), van de korrelgrootte (kleine korrels verdampen sneller) en de wind (bij sterke wind wordt de zwaveldamp weggeblazen). Zwaveldamp kan ook via de huidmondjes binnen in het blad komen. Bij sterke verdamping zijn de nevenwerkingen (fytotoxiciteit) hierdoor groter (Blokma, 1993).

Er is een aantal redenen voor de inductie van bladverbranding als gevolg van de toediening van zwavel. In de eerste plaats zijn bepaalde cultivars gevoelig voor zwavel. Een andere reden heeft te maken met de deeltjesgrootte van zwavel die varieert. Als de deeltjes te groot zijn, verliezen ze effectiviteit door trage werking en zwakke hechting. Wanneer ze te klein zijn, verdampen ze te snel en kunnen de deeltjes via de huidmondjes in de intracellulaire ruimte terechtkomen waar schade veroorzaakt wordt. Verder veroorzaken te grote deeltjes een te hoge ophoping van het middel op een plek met verbranding tot gevolg. De deeltjes moeten daarom ook kleiner zijn dan 8 µm. De verbranding van het fruit door zwavel komt als gevolg van het licht. De verbranding komt altijd op de zonzijde van de vrucht op het moment van het maximum hoeveelheid infrarood straling. Thiovit Jet is zo geconstrueerd dat slecht 10,5% kleiner is dan 1 µm en 83% van de deeltjes tussen de 1 en 8 µm liggen. Ook tankmixen met alkaline en minerale olie geven verbranding.

In 2001 waren er in proeven op het Praktijkonderzoek Plant & Omgeving (PPO) sector Fruit goede resultaten verkregen met zwavel. Er moet relatief vaak zwavel gespoten worden voor een goed resultaat. Om ook in de biologische fruitteelt de hoeveelheid actieve stof te verlagen, zal zwavel zo optimaal mogelijk ingezet moeten worden. Schurftwaarschuwingssystemen kunnen hier een helpende hand bieden. Voor het optimaal functioneren van de programma's ontbreken echter een aantal gegevens. Dit is met name de regenvastheid van zwavel. In 2002 en 2003 werd daarom de regenvastheid van zwavel bepaald. Het doel was te bepalen bij welke hoeveelheid regen (in mm's) de werking van zwavel niet meer acceptabel is. De zwavel dat werd getest, was Thiovit Jet (2002 en 2003).





## 2 Materiaal en methoden

### 2.1 Korte proefbeschrijving

Opgepotte bomen werden in 2002 met zwavel bespoten waarna een gedeelte berekend werd bij verschillende hoeveelheden regen. De bomen werden daarna geïnoculeerd met schurftconidiën. Na twee weken werden de bomen op schurftsymptomen beoordeeld. Daarnaast werden bladeren geplukt waarvan de overgebleven zwavelresiduen geanalyseerd werden.

In 2003 werd de proef herhaald met een aantal aanpassingen. De concentratie zwavel werd verhoogd van 4 kg naar 6 kg, verder werd de infectie uitgevoerd bij 8 °C. Wederom werd het residu van zwavel bepaald op het blad.

### 2.2 Uitgangsmateriaal

De proef werd in beide jaren uitgevoerd bij het PPO te Randwijk. De bomen die gebruikt werden, waren kleine opgepotte M9 bomen met twee bomen in een pot. Deze nog niet uitgelopen bomen werden een aantal weken voor het uitvoeren van de proef uit de koelcel gehaald en op een warmere plek gezet. Op deze manier liepen veel knoppen uit met veel jong infecteerbaar blad.

Om de regen te simuleren werd een afregenapparaat van Hol uit Meteren gebruikt. Het apparaat werd met een terugloop aanpast om met lage druk en kleine doppen te kunnen werken. Het apparaat werd onder de onderkapping op het PPO gebruikt zodat wind minder effect had. Het afregenapparaat werd over een baan geleid en kon heen en weer rijden met behulp van voelers. De spuitarm bevatte 5 dophouders voor Teejet doppen met een onderlinge afstand van 50 cm. De gebruikte doppen waren blauwe spleetdoppen (DG 8003) van Teejet, doppen die minder drift gevoelig zijn dan normale kegeldoppen. De hoogte van de spuitboom was 2,15 m lang.

Bomen werden geïnfecteerd in de klimaatkamer van het PPO. Het afregenen werd uitgevoerd op 14 augustus 2002 en op 16 september in 2003. In de Bijlage I staan een aantal foto's die tijdens de proef zijn genomen.

### 2.3 Hoeveelheid regen tegenover de effectiviteit van zwavel

De opgepotte bomen werden in 2002 bespoten met zwavel (Thiovit Jet, 4 kg/1000 l) met als uitzondering de onbehandelde bomen die in de koelcel bij 4°C werden weggezet. De bespuitingen werden uitgevoerd met de Empas proevenspuit met 1000 l/ha bij 8 bar tot afdruipe. De behandelingen staan in tabel 1. Twee uur na opdrogen werden de bomen van behandeling 3 t/m 8 at random in 2 herhalingen weggezet (zie Bijlage II voor de opstelling). De bomen werden op fruitbakken (65 cm hoog) gezet zodat de bomen dicht bij de spuitarm stonden. Op deze hoogte was het spuitbeeld veel gelijkmatiger dan wanneer de bomen lager stonden. Wervelingen veroorzaken dan een ongelijkmatige verdeling van de regen. Per behandeling werden 4 bomen gebruikt die in een vierkant op 1 fruitbak werden gezet. De bomen van behandeling 2 werden naar de koelcel gebracht zodat de zwavel nauwelijks zou verdampen van het blad.

Tabel 1: De uitgevoerde behandelingen in 2002

<b>Behandeling</b>	<b>Zwavel behandeld</b>	<b>Aantal mm regen</b>
1	-	0
2	+	0
3	+	5
4	+	10
5	+	15
6	+	20
7	+	30
8	+	40

In 2003 werd Thiovit Jet verneveld in de concentratie 6 kg/200 l. De onbehandelde bomen werden niet met zwavel bespoten en werden in de koelcel bij 4°C weggezet. De bespuitingen werden uitgevoerd met de motorrugspuit met luchtondersteuning zodat een fijnere verdeling van zwavel werd verkregen over het blad. De behandelingen staan in tabel 2. Twee uur na opdrogen werden de bomen van behandeling 3 t/m 8 in 4 herhalingen weggezet (zie Bijlage II voor de opstelling). De behandelingen werden volledig geward weggezet in blokken. De bomen werden op fruitbakken (65 cm hoog) gezet. Per behandeling werd 1 pot met 2 bomen erin gebruikt die met 3 andere behandelingen in een vierkant op 1 fruitbak werden gezet. De bomen van behandeling 2 werden naar de koelcel gebracht zodat de zwavel nauwelijks zou verdampen van het blad.

Tabel 2: De uitgevoerde behandelingen in 2003

<b>Behandeling</b>	<b>Thiovit (6 kg/ha)</b>
1	niet bespoten met Thiovit (0 mm)
2	0 mm regen
3	5 mm
4	10 mm
5	15 mm
6	20 mm
7	30 mm
8	40 mm

Om de hoeveelheid regen te bepalen tijdens het afregenen, werd een geijkte regenmeter van het KNMI gebruikt die in het midden van de rij met fruitbakken stond. Om de hoeveelheid regen op andere plekken te bepalen, werden plastic bakken gebruikt die het water opvingen. De afmetingen waren 27,5 x 36,5 x 17,5 cm (b x l x h). De gevonden waarden werden vergeleken met de waarden die de regenmeter van het KNMI aangaf. Een stopwatch werd gebruikt om te bepalen wanneer de behandelingen weggehaald moesten worden.

Na 5 mm werden de bomen van behandeling 3 verwijderd en te drogen gezet buiten het gebied van het afregenen. De plastic bakken en de regenmeter werden geleegd en de hoeveelheid millimeters werd genoteerd. Na het opdrogen van de bomen werden ze naar de koelcel gebracht. Dit werd ook met de andere behandelingen gedaan. In 2002 werd de baan ingekort naarmate er bomen werden weggehaald, in 2003 kon dit niet vanwege een andere proefopzet. Na het opdrogen werden in 2003 meteen de bladmonsters genomen, in 2002 werd dat pas de volgende dag gedaan.

De volgende dag werden in 2002 de bomen bespoten met een verse sporensuspensie. In 2003 werden de bomen twee dagen erna op 18 september bespoten met sporen. Om de sporensuspensie te maken, werden in 2002 kwasten gebruikt waarmee de met schurft aangetaste bladeren afgeborsteld werden in kraanwater. In 2003 werden verschillende manieren gebruikt om de sporen van de bladeren te spoelen namelijk met de kwast en door water te spuiten over de bladeren waarna het water werd opgevangen. De bladeren werden verzameld uit een onbehandeld perceel om de meest vitale sporen te gebruiken voor de inoculatie. De suspensie bevatte in 2002 110.000 sporen per ml. Om de bomen te inoculeren werd 5,5 liter gebruikt. In 2003 werd een sporen suspensie van gemiddeld 72.000 sporen per ml gemaakt en werd in totaal 5 liter gebruikt.

De bomen werden in 2002 24 uur in het donker weggezet in de klimaatkamer bij 18°C en 100% relatieve luchtvochtigheid (RV). Om de temperatuur en de relatieve luchtvochtigheid te controleren werd een HOBO datalogger (Firma Mulder Hardenberg B.V.) gebruikt. De onbehandelde bomen stonden apart van de met zwavel behandelde bomen zodat er geen vocht met zwavel op de onbehandelde bomen kon komen. Na 24 uur werden de bomen uit de klimaatkamer gehaald en onder de overkapping gezet. Na het verschijnen van de symptomen werden de bomen beoordeeld op de mate van aantasting door schurft. Alle bomen werden gescoord door de aangetaste bladeren en de hoeveelheid twijgen te tellen. In 2003 werd er voor gekozen de bomen bij een temperatuur weg te zetten die meer overeenkwam met temperaturen die in het voorjaar gebruikelijk zijn. Als referentie temperatuur werd 8 °C vastgesteld. Om toch een goede infectie te verkrijgen, werden de bomen 48 uur lang in de klimaatkamer bewaard bij 100% RV. De bomen werden door elkaar in de klimaatkamer gezet. Na de infectieperiode werden de bomen onder de overkapping gezet. Nadat de symptomen goed zichtbaar waren, werden de bladeren beoordeeld. Het aantal scheuten, het aantal bladeren, het aantal aangetaste bladeren en het aantal vlekken werd bepaald.

## 2.4 Bepaling van effectiviteit van zwavel bij 8°C

Vanuit de literatuur was bekend dat zwavel pas vanaf 10 °C werkzaam werd (Bloksma, 1993). Er werd een infectie proef op 11 juni 2003 uitgevoerd om te bepalen of zwavel wel werkt bij 8°C. Dit werd gedaan voordat de infectie na de afregenoef plaats zou vinden. Er werden drie M9 bomen behandeld met zwavel (6 kg/ha) en vergeleken met 3 onbehandelde bomen. De infectie vond plaats bij 8°C met 127.500 sporen/ml. Na drie weken werden de bomen beoordeeld op schurft. Het totaal aantal bladeren en het aantal bladeren met schurft van 7 scheuten werd bepaald. Alle bladeren werden ingedeeld in een bepaalde klasse waaruit een schurftindex bepaald werd. In klasse 0 vielen alle bladeren die geen aantasting hadden, in klasse 1 vielen bladeren met 1-5 vlekken, in klasse 2 6-10 vlekken, klasse 3 10-15 vlekken en in klasse 4 bladeren met meer dan 15 vlekken. Voor de index werd het gemiddelde genomen van de klassen waarin de verschillende bladeren werden ingedeeld.

Daarnaast werd er een andere manier gebruikt om te kijken of zwavel bij 8°C werkt. Dit werd gedaan door de kieming van schurftsporen te beoordelen op agarschalen. De proef werd op 24 juni 2003 in viervoud uitgevoerd. Er werden water-agarschalen gegoten. In totaal werden er 2 doseringen Thiovit gebruikt namelijk 0,4% en 0,6%. Dit werd vergeleken met een onbehandelde plaat. Deze oplossingen werden in water aangemaakt. Na stollen werd 0,1 ml van het middel op de platen aangebracht en uitgestreken. Na opdrogen werd de sporensuspensie (300.000 sporen/ml) op de platen aangebracht. Per plaat werd 0,1 ml sporensuspensie aangebracht en met een glasspatel uitgestreken. De platen werden bij 8°C bewaard tot het beoordelen. Na ongeveer 48 uur werd het kiemingspercentage bepaald door 100 sporen te tellen per schaal.

## 2.5 Zwavel residu analyse

De ontwikkeling van de zwavelanalyse is uitgevoerd in samenwerking met Wim Roelofsen van het Laboratorium voor Microbiologie in Wageningen.

### 2.5.1 Recovery van Thiovit Jet

In 2003 werden een aantal recovery testen uitgevoerd om te bepalen hoeveel zwavel er van de bladeren gewassen kon worden met de methode die in 2002 was gebruikt. De eerste proef werd eind juni ingezet en op 3 juli geanalyseerd, alleen de recovery van Thiovit Jet werd bepaald. Daarbij werden er verschillende oplossingen van zwavel aangemaakt. De gebruikte Thiovit oplossingen waren: 0; 0,5; 1; 2,5; 5; 10 g/l. De proef werd uitgevoerd in 5 herhalingen. Van de oplossingen werd 1 ml gepipetteerd en op een appelblad aangebracht. Dit blad werd aan de buitenlucht gedroogd. Nadat de bladeren droog waren, werden ze koel bewaard tot afspoelen. Elk blad werd in 60 ml aceton 2 uur lang geschud in de roteermachine van Gerhardt op stand 7,5. De gevonden waarden werden vergeleken met een ijklijn van Thiovit Jet.

De tweede recovery toets werd eind augustus 2003 uitgevoerd. De gebruikte Thiovit oplossingen waren: 0; 0,6; 2,1; 4,2; 8,4; 16,8 g/l. De proef werd uitgevoerd in 5 herhalingen. Van de oplossingen werd telkens 1 ml gepipetteerd en op een appelblad aangebracht, per oplossing waren er drie bladeren. Na het opdrogen werden de drie bladeren samen met zeven onbehandelde bladeren 2 uur geschud in 60 ml aceton in de roteermachine van Gerhardt op stand 7,5. De gevonden waarden werden vergeleken met een ijklijn van Thiovit Jet.

### 2.5.2 Bepaling van residu zwavel op blad in 2002 en 2003

In 2002 werden voor de zwavel analyse 100 bladeren geplukt van de vier bomen. Deze bladeren werden 2 uur lang geschud in 300 ml aceton in de roteermachine van Gerhardt op stand 5. De oplossingen werden koel bewaard (4 °C). In 2003 werden 15 bladeren geplukt per pot en 2 uur lang geschud in 90 ml aceton op stand 7,5.

De oppervlakte van de bladeren werd bepaald met de bladoppervlaktemeter van Eijkelkamp om de hoeveelheid zwavel per oppervlakte te kunnen uitdrukken. Met behulp van de High Performance Liquid Chromatography (HPLC) werd de hoeveelheid zwavel bepaald. Na ongeveer 9 minuten kwam de piek van zwavel.

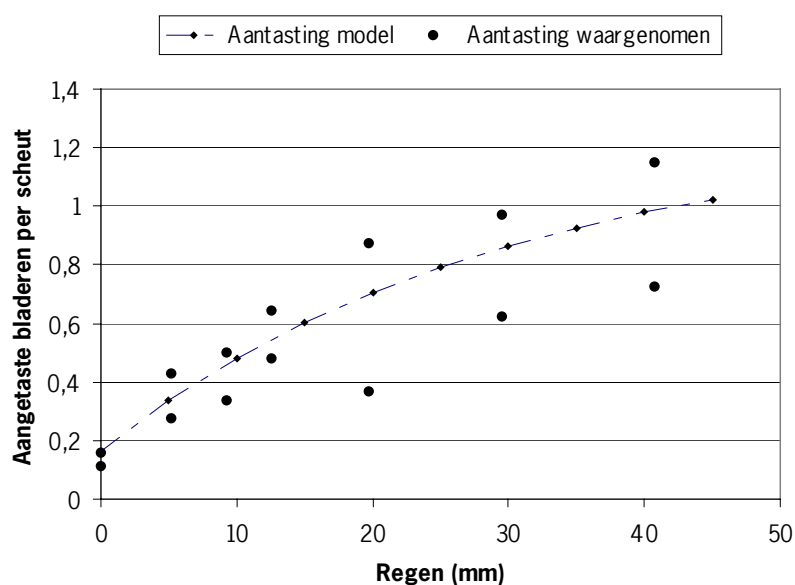
## 2.6 Statistische analyse

Statistische analyse van de resultaten is uitgevoerd met Genstat 5th Edition release 4.21 (Bijlage IV). In 2003 werd Genstat 6th Edition gebruikt. Bij de biotoets bepaling werd gebruikt gemaakt van een niet-lineaire regressieanalyse. Voor de analyse van de zwavelhoeveelheden werd van een lineaire of 'lineair by lineair' regressie gebruik gemaakt. Verder werd de binomiale toets gebruikt via regressie analyse voor het aantonen van verschillen in kieming. De verschillende behandelingen werden paarsgewijs vergeleken. ANOVA werd gebruikt bij de bepaling van effectiviteit van zwavel bij 8 °C.

## 3 Resultaten

### 3.1 Resultaten 2002

Tabel 3 en Figuur 1 geven de resultaten van de aantasting met schurft na het afregenen van zwavel. Voor de volledige dataset van alle experimenten wordt verwezen naar Bijlage III. Na aanleiding van de gevonden waarden werd een regressielijn berekend die de hoeveelheid regen uitzet tegen de aantasting met schurft. Na 5 mm regen werd een verdubbeling in de aantasting gevonden. De bomen die niet met zwavel waren bespoten zouden de hoogste aantasting met schurft moeten hebben. Dit bleek niet het geval, bomen die met zwavel waren behandeld en meer dan 12,6 mm regen hadden gehad, waren zwaarder aangetast met schurft (Tabel 3).

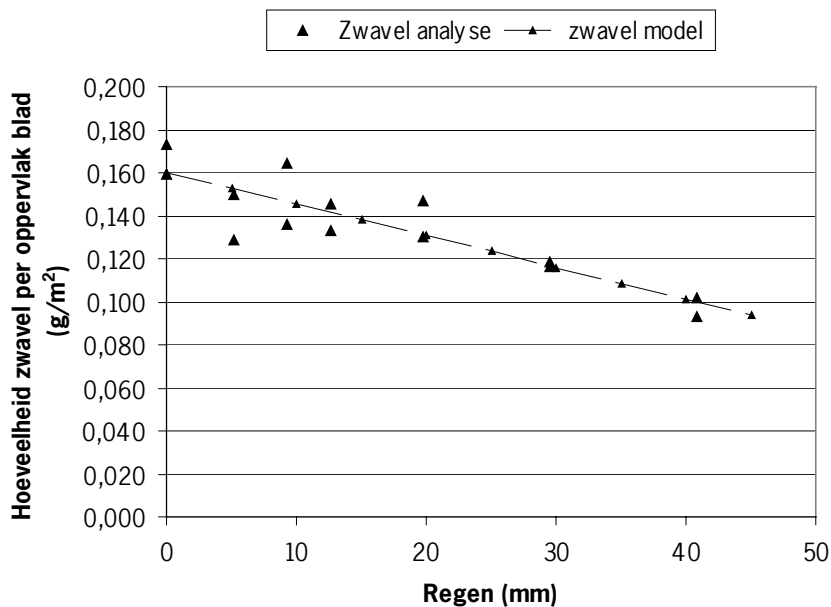


Figuur 1: Gemiddeld aantal aangetaste bladeren per scheut uitgezet tegen de hoeveelheid regen in 2002.

Bomen die waren bespoten met zwavel met de dosis van 4 kg/ha en niet waren beregend, hadden toch nog een aantasting van 0,11 en 0,16 aangetaste bladeren per scheut. Na 40,8 mm regen werd de hoogste aantastingsgraad gevonden.

Tabel 3: Gemiddeld aantal aangetaste bladeren per scheut na verschillende hoeveelheden regen in 2002.

Behandeling	Herhaling	Aantal mm regen	Aangetaste bladeren per scheut
1	a	0	0,39
1	b	0	0,64
2	a	0	0,11
2	b	0	0,16
3	a	5,2	0,43
3	b	5,2	0,28
4	a	9,3	0,50
4	b	9,3	0,34
5	a	12,6	0,48
5	b	12,6	0,65
6	a	19,7	0,88
6	b	19,7	0,37
7	a	29,5	0,62
7	b	29,5	0,97
8	a	40,8	1,15
8	b	40,8	0,73



Figuur 2: Hoeveelheid zwavel per m<sup>2</sup> blad tegen de hoeveelheid regen in 2002.

Tabel 4 en Figuur 2 geven de resultaten van de zwavelanalyse. Na aanleiding van de gevonden waarden werd een regressielijn berekend die de hoeveelheid regen uitzet tegen de hoeveelheid zwavel per m<sup>2</sup> blad. Bij het maken van de ijklijn en het meten met behulp van de HPLC bleek dat zwavel niet meer oplost na 0,28 gram per liter aceton. Na 40,8 mm regen is nog 58,7% van de zwavel aanwezig op het blad (Tabel 4).

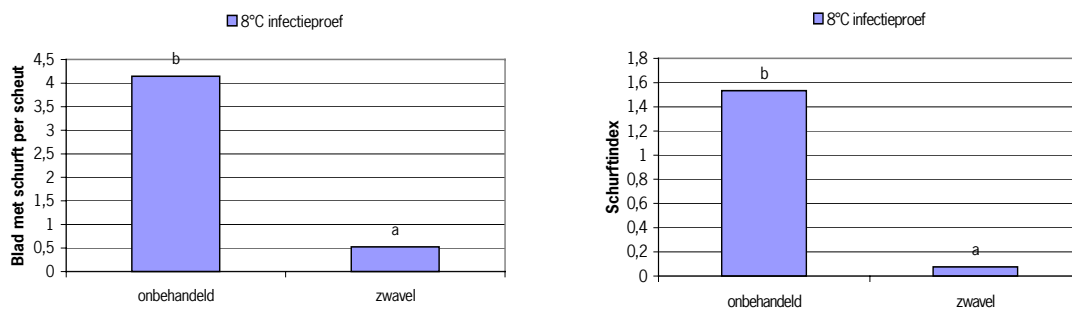
Tabel 4: Hoeveelheid zwavel per m<sup>2</sup> blad tegen de hoeveelheid regen in 2002.

Behandeling	Herhaling	Aantal mm regen	Aantal gram zwavel per m <sup>2</sup> blad	Gemiddelde aantal gram zwavel per m <sup>2</sup> blad	Percentage
1	a	0	0		
1	b	0	0	0	
2	a	0	0,173		
2	b	0	0,159	0,166	100
3	a	5,2	0,129		
3	b	5,2	0,150	0,139	84
4	a	9,3	0,165		
4	b	9,3	0,136	0,150	91
5	a	12,6	0,145		
5	b	12,6	0,133	0,139	84
6	a	19,7	0,130		
6	b	19,7	0,147	0,139	84
7	a	29,5	0,116		
7	b	29,5	0,118	0,117	71
8	a	40,8	0,093		
8	b	40,8	0,102	0,097	59

## 3.2 Resultaten 2003

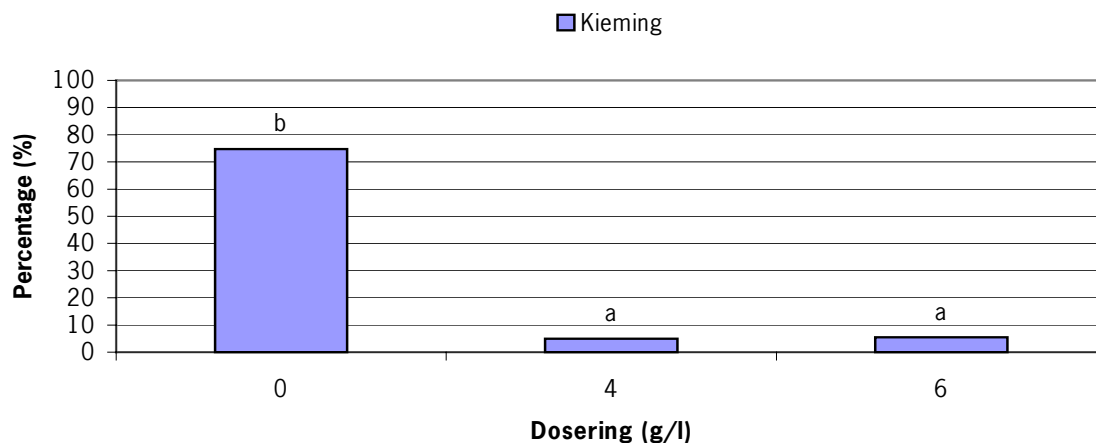
### 3.2.1 Effectiviteit bij 8 °C

Na bespuiting van de M9 bomen met Thiovit Jet (6kg/1000l) bleek zwavel schurft betrouwbaar te bestrijden bij 8°C op M9 bomen. In totaal hadden de bomen behandeld met zwavel 87% minder aangetaste bladeren in vergelijking met de onbehandelde bomen. Wanneer er gekeken werd naar de ernst van de aantasting bleek een bestrijdingseffect van 95%. Met zwavel behandelde bladeren die toch geïnfecteerd raakten hadden minder vlekken dan de aangetaste bladeren bij de onbehandelde bomen. Zwavel bleek de schurft niet voor de volle honderd procent te kunnen bestrijden bij 8°C. Het kiemingspercentage van de sporensuspensie was 77% na 5 dagen bij 20 °C.



Figuur 3: De aantasting met schurft uitgedrukt als het aantal bladeren met schurft per scheut en als schurftindex

Kieming werd op agar betrouwbaar geremd door het gebruik van zwavel. In het geval van 4 g/l werd een bestrijdingseffect gevonden van 93,4%. Als een dosering van 6 g/l werd gebruikt, lag het bestrijdingseffect iets lager met 92,6%. De verschillen tussen de doseringen waren niet betrouwbaar. Ook bij deze proef bleek zwavel de kieming van zwavel te remmen bij 8°C.



Figuur 4: Percentage kieming na behandeling met 4 en 6 g/l Thiovit Jet in vergelijking met onbehandeld op agar

### 3.2.2 Recovery van Thiovit Jet

Beide recovery experimenten gaven hoge recovery percentages bij verschillende concentraties zwavel. Bij het experiment in juni kwamen de meeste waarden rond de 100%. Dit was in augustus meestal boven de 100%. Dit betekende dat er meer zwavel werd terug gevonden dan er op was aangebracht. Uit de analyse kwam geen duidelijke lijn maar de meeste zwavel kon worden teruggevonden.

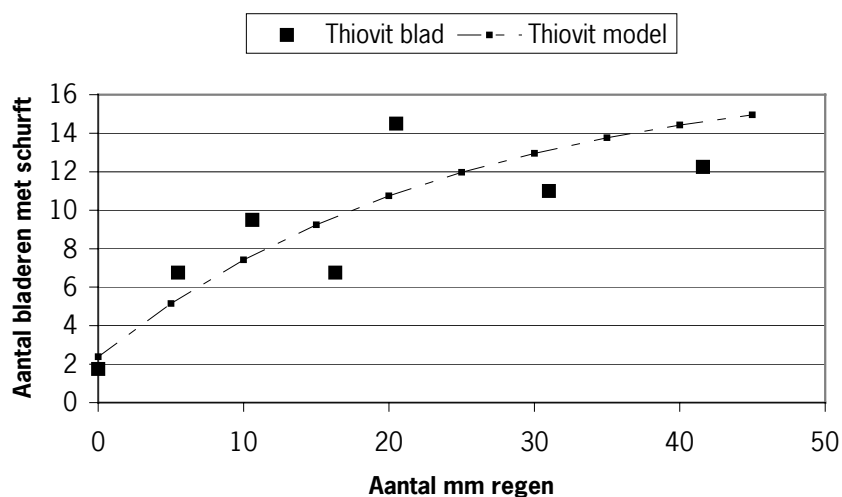
Tabel 5: Het percentage zwavel dat teruggevonden werd met behulp van de zwavel analyse methode in juni

Concentratie (mg/l)	Volume (l) op blad gebracht	Thiovit (mg) op blad	Volume (l) aceton gespoeld	Berekende concentratie (mg/l) in monster	Geanalyseerde concentratie (mg/l)	% Recovery
0	0,001	0	0,06	0	0	-
500	0,001	0,5	0,06	8,3	8,19	98,7
1000	0,001	1	0,06	16,7	17,56	105,2
2500	0,001	2,5	0,06	41,7	42,31	101,5
5000	0,001	5	0,06	83,3	84,37	101,3
10000	0,001	10	0,06	166,7	147,63	88,6

Tabel 6: Het percentage zwavel dat teruggevonden werd met behulp van de zwavel analyse methode in augustus

Concentratie (mg/l)	Volume (l) op blad gebracht	Thiovit (mg) per 10 bladeren	Volume (l) aceton gespoeld	Berekende concentratie (mg/l) in monster	Geanalyseerde concentratie (mg/l)	% Recovery
0	0,001	0	0,06	0	0	-
600	0,001	0,6	0,06	10	9,69	121,2
2100	0,001	2,1	0,06	35	31,40	112,1
4200	0,001	4,2	0,06	70	65,37	116,7
8400	0,001	8,4	0,06	140	121,30	108,3
16800	0,001	16,8	0,06	280	226,81	101,3

### 3.2.3 Afregenproef met Thiovit Jet



Figuur 5: Het gemiddeld aantal bladeren met schurft na behandeling met Thiovit Jet na berekening met verschillende hoeveelheden regen in 2003.



De resultaten van de afregeproef in 2003 hadden een hogere spreiding dan werd verwacht. De bomen die met 20 mm geregend waren, hadden een hoger aantastingsniveau dan bomen die met 30 en 40 mm regen waren beregend (Figuur 5 en tabel 7). Van de gevonden waarden werd een regressielijn berekend die de hoeveelheid regen uitzet tegen het aantal bladeren met schurft.

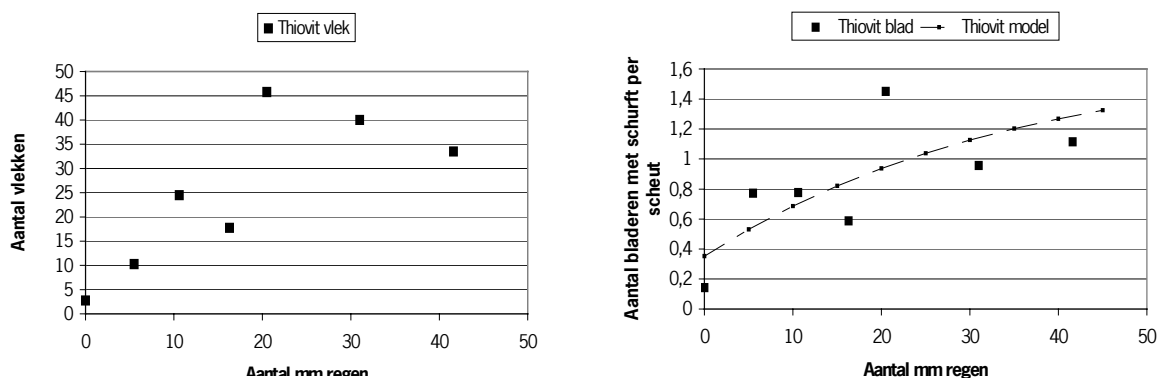
Net als vorig jaar werd er aantasting gevonden op bomen die niet beregend werden maar wel bespoten waren met Thiovit (6 kg/ha). Een aantal bomen had echter bij 0 mm regen geen enkele aantasting op de bladeren. Bij 5 mm regen was de gemiddelde aantasting meer dan verdubbeld in vergelijking met de gemiddelde aantasting bij 0 mm regen.

Na 40 mm regen was het gemiddelde aantal bladeren met schurft lager in vergelijking met de onbehandelde bomen. Er was kennelijk nog steeds zwavel aanwezig om schurftinfecties tegen te gaan.

Vorig jaar (2002) werd de aantasting met schurft uitgedrukt in het gemiddelde aantal aangetaste bladeren per scheut. In Figuur 6 zijn de resultaten van 2003 op die manier weergegeven. Er kon vanwege de sterke variatie in waarnemingen geen lijn doorheen gefit worden.

Tabel 7: Het gemiddeld aantal bladeren met schurft, per scheut en het gemiddelde aantal vlekken van bomen die behandeld waren met Thiovit Jet en beregend met verschillende hoeveelheden water in 2003.

Behandeling	Zwaveltype	Regen (mm)	Gemiddeld aantal blad met schurft	Gemiddeld aantal blad met schurft per scheut	Aantal vlekken
1	Onbehandeld	0	20	1,89	54
2	Thiovit	0	1,75	0,13	2,75
3	Thiovit	5,5	6,75	0,77	10,25
4	Thiovit	10,6	9,5	0,77	24,5
5	Thiovit	16,3	6,75	0,62	17,75
6	Thiovit	20,5	14,5	1,40	45,75
7	Thiovit	31	11	0,92	40
8	Thiovit	41,6	12,25	1,16	33,5



Figuur 6: Gemiddelde aantal vlekken en gemiddeld aantal bladeren met schurft per scheut na behandeling met Thiovit Jet bij verschillende hoeveelheden regen in 2003.

Om de relatie tussen de hoeveelheid zwavel op het blad en het effect op de schurft te bestuderen werden bladmonsters genomen van bladeren die verschillende hoeveelheden regen hadden gehad. De gegevens staan gepresenteerd in Tabel 8 en Figuur 7. Na aanleiding van de gevonden waarden werd een regressielijn berekend die de hoeveelheid regen uitzet tegen de hoeveelheid zwavel per m<sup>2</sup> blad.

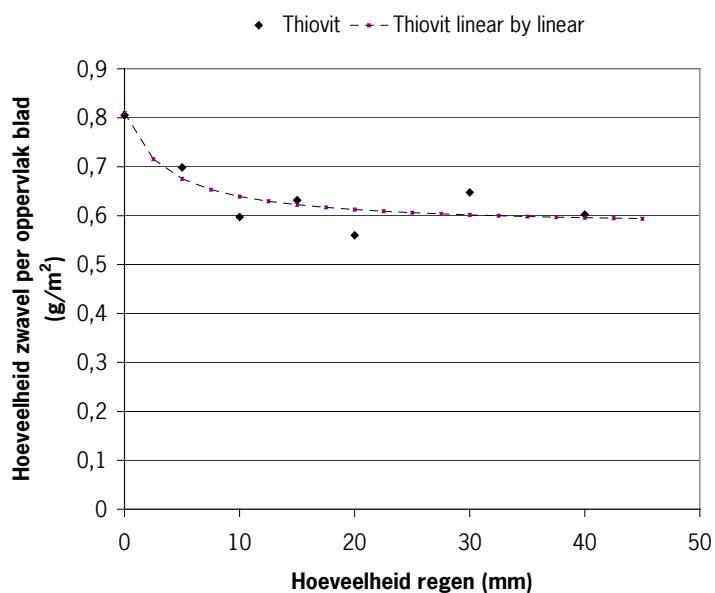
De hoeveelheid zwavel nam bij Thiovit Jet slechts beperkt af. Dit is in overeenstemming met waarnemingen tijdens het afregegen. Zelfs na 40 mm regen was er nog werking tegen schurft en was er residu zichtbaar op de tip van het blad en over het gehele blad. Dit is een ander beeld dan wanneer naar de aantastingsniveaus gekeken wordt. Daar kon een verdubbeling van de aantasting gevonden worden wanneer er 5 mm beregend was. Doordat de hoeveelheid zwavel slechts beperkt afneemt, kan de methode nooit erg gevoelig zijn.

Als er bijvoorbeeld gekeken wordt naar de hoeveelheid gevonden zwavel na 10 mm en na 40 mm regen dan zijn de waarden gelijk terwijl in het laatste geval met 30 mm water meer is beregend (Tabel 8).

In vergelijking met 2002 werd er in 2003 meer zwavel (Thiovit Jet) gevonden op de bladeren. Dit was ongeveer een factor 5 hoger terwijl er maar voor een 1,5 keer hogere dosis was gekozen.

Tabel 8: Hoeveelheid zwavel per m<sup>2</sup> blad tegen de hoeveelheid regen in 2003.

Behandeling	Zwaveltype	Regen (mm)	Gemiddelde aantal gram zwavel per m <sup>2</sup> blad	Percentage
1	Onbehandeld	0	0,00	-
2	Thiovit	0	0,81	100,0
3	Thiovit	5,5	0,70	86,8
4	Thiovit	10,6	0,60	74,2
5	Thiovit	16,3	0,63	78,4
6	Thiovit	20,5	0,56	69,5
7	Thiovit	31	0,65	80,4
8	Thiovit	41,6	0,60	74,8



Figuur 7: Hoeveelheid zwavel per m<sup>2</sup> blad tegen de hoeveelheid regen in 2003.

## 4 Discussie

### 4.1 Meeldauw

De bomen hadden in 2002 last van meeldauw, sommige zelfs erg veel. Besloten is om de onbehandelde die erg aangetast waren om te wisselen met bomen van andere behandelingen met minder meeldauw.

Meeldauw wordt effectief bestreden door zwavel. Dit was waarschijnlijk ook de reden dat de onbehandelde bomen die geen zwavel behandeling hadden gehad, minder schurft hadden dan bomen die met bijvoorbeeld 30 mm water waren beregend. De meeldauw had waarschijnlijk met de schurft geconcurrerd zodat er slechts een beperkte hoeveelheid aangetaste bladeren werd gevonden. In 2003 hadden de bomen minder last van meeldauw. Nu werd er op de onbehandelde bomen meer schurft gevonden dan op bomen die 40 mm regen hadden gehad.

### 4.2 Zwavelbedekking

De bomen zijn in 2002 van beide kanten bespoten tot afdruppen. Wat opviel was dat er veel grote druppels gevormd werden en die samen kwamen bij bijvoorbeeld de tip van het blad. Hierdoor was de bedekking niet uniform. Dit kan een storend effect hebben op de zwavelanalyses. Op plekken waar de zwavel zich ophoopt, zal een gedeelte overblijven zelfs na 40 mm regen zoals was waargenomen. De rest van het blad bevat te weinig zwavel en raakt geïnfecteerd met schurft terwijl de residu analyse misschien nog een redelijke hoeveelheid middel aangeeft. Beter is het om misschien een uitvloeier te gebruiken of te vernevelen in vervolg experimenten. In 2003 werd daarom verneveld maar ook toen kwam er veel zwavel in de tip van het blad en gaf de analyse een beperkte afname. Ook op de rest van het blad was nog veel zwavelresidu zichtbaar. Toch werd er bij 5 mm regen al een verdubbeling van de aantasting gevonden. Daarom lijkt het verstandig om na een bui opnieuw zwavel te spuiten om het optimale resultaat te behalen.

### 4.3 Effectiviteit van zwavel

Uit de resultaten van 2002 en 2003 bleek dat de bomen die met zwavel waren behandeld en die niet afgeregend werden toch geïnfecteerd raakten met schurft. Hieruit volgt dat zwavel in de concentratie die is toegediend geen voldoende bescherming bood tegen schurft. Mogelijke verklaring kan de hoge concentratie sporen zijn waarmee geïnoculeerd was, het ging om een zware infectie. De infecties die in het veld plaatsvinden onder boomgaard condities zullen over het algemeen minder zwaar zijn. Tenslotte is zwavel in vergelijking met andere middelen een zwakker middel tegen schurft.

Zwavel bleek wel een werking te hebben bij 8°C. Dit in tegenstelling van wat Bloksma (1993) hierover vermeldt. Verder bleek een hogere dosering van zwavel bij 8°C geen hoger kiemend effect te hebben op de schurft sporen. Waarschijnlijk wordt er een overdosis aan middel toegepast wanneer er met 6 kg/ha gespoten wordt.

### 4.4 Zwavelanalyse

De ijklijn van zwavel was lineair. Zwavel kon tot een hoeveelheid van 0,28 g/l opgelost worden in aceton. Is de hoeveelheid zwavel zo hoog dat zwavel in die hoeveelheden niet oplosbaar is dan kan er meer aceton gebruikt worden dan de 300 ml die in 2002 gebruikt is. De bladeren werden 2 uur geschud. Het was in 2002 niet bekend hoeveel zwavel er van de bladeren afgespoeld was. Verder kan het percentage zwavel dat van het blad afgespoeld wordt, verschillend zijn naarmate er minder zwavel op het blad zit.

Dit kan een vertekend beeld geven. Daarom werd in 2003 de recovery bepaald. Daaruit kwam dat alleen bij de hoogste hoeveelheid zwavel niet 100% werd terug gevonden in het geval van de proef in juni. De oplosbaarheid van zwavel kan bij de hoge concentratie de beperking zijn om 100% terug te vinden. In augustus werd over het algemeen meer zwavel teruggevonden dan er op aangebracht was. De gebruikte ijklijn was dezelfde als in juni.

Het voordeel van een zwavel analyse is dat wanneer de resultaten van een biotoets bij verschillende hoeveelheden zwavel gekoppeld kunnen worden aan de analyse, er veel proeven gedaan kunnen worden zonder een arbeidsintensieve biotoets. Er zijn echter een aantal zaken wat de methode niet of minder geschikt maakt. Zoals in de resultaten is besproken, is de methode waarschijnlijk niet gevoelig genoeg. Omdat er gelijke waarden gevonden werden bij 10 en 40 mm regen terwijl er 30 mm regen verschil tussen zit. Dit zou verbeterd kunnen worden door een groter bladmonster te nemen zodat de gevonden waarden een kleinere variatie hebben. Op die manier zou de analyse van zwavel alsnog betrouwbare waarden kunnen geven van de hoeveelheid zwavel. Het is dan bekend bij welke hoeveelheid op het blad gevonden zwavel nog voldoende bescherming biedt. Een nadeel is dat de bedekking van het middel geen invloed heeft op de uitslagen van de analyse. Zeker bij regen treedt er een herverdeling van de zwavel op zodat er plekken ontstaan waar de zwavel zich ophoopt terwijl op andere plekken geen zwavel meer is met een infectie als gevolg. Deze zwavelanalyse kan dit niet onderscheiden. Door de punt van het blad eraf te knippen en deze apart te analyseren zou dit gedeeltelijk ondervangen kunnen worden. Een ander nadeel is dat de methode geen korrelgrootte kan onderscheiden. Zwavel bestaat uit veel verschillende korrelgrootten. De kleine korrels zijn het meest effectief tegen schurft maar waarschijnlijk ook het meest gevoelig voor het afregenen. Hoewel er nog veel zichtbaar zwavel op het blad aanwezig is, kan het zijn dat veel van de kleine korrels van het blad zijn verdwenen na 5 mm regen. De effectiviteit van zwavel neemt dan sterk terug. Dit kan een verklaring zijn voor de sterke toename van aantasting na 5 mm regen. Dit laatste nadeel lijkt zeer belangrijk te zijn. Als de effectiviteit van zwavel vooral af blijkt te hangen van de korrelgrootte en in mindere mate de totale hoeveelheid dan lijkt het beter om een methode te hebben die onderscheid kan maken in de verdeling in korrelgrootte. De totale hoeveelheid zwavel op zich is dan geen goede maat voor de effectiviteit. Volgens Syngenta heeft 83% van de deeltjes een grootte van 1 tot 8  $\mu\text{m}$ , wat de ideale range is. Deeltjes van die grootte hebben de meest optimale eigenschappen wat betreft effectiviteit en beperking van schade. Welke fractie deze deeltjes uitmaken van het totale gewicht is niet bekend. Wanneer dit lager is dan 83%, biedt dat meer ruimte tot optimalisering van zwavel.

## 4.5 Opmerkingen gewasbeschermingsmiddelen

De in dit verslag gemelde doseringen van gewasbeschermingsmiddelen hebben betrekking op de dosering van het gebruikte merk. Het is onvermijdelijk dat niet alle op de markt zijnde producten met dezelfde werkzame stof zijn genoemd. Hieruit mag niet worden afgeleid dat een voorkeur bestaat voor het genoemde merk. Met nadruk wordt erop gewezen dat in dit verslag proeven worden beschreven met middelen en/of doseringen die op grond van de bestrijdingsmiddelenwet niet zijn toegelaten. De gebruiker van gewasbeschermingsmiddelen mag slechts producten gebruiken die een wettelijke toelating hebben, en dient zich daarbij ten alle tijden te houden aan het wettelijk gebruiksvoorschrift op het etiket van de verpakking. Het Praktijkonderzoek Plant en Omgeving stelt zich niet aansprakelijk voor eventuele schadelijke gevolgen ontstaan door gebruik van de gegevens in dit rapport.

## 5 Conclusies

### 5.1 Conclusies 2002

Geconcludeerd kan worden dat:

- zwavel geen voldoende bescherming gaf tegen schurft bij deze zware infectie en dosis van 4 kg zwavel per hectare en geen regen.
- bij 5 mm regen er al een verdubbeling van de aantasting met schurft was.
- zwavel tot een concentratie van 0,28 g/l goed oplost in aceton.
- met behulp van de HPLC zwavel aan te tonen is op het blad.

### 5.2 Conclusies 2003

Geconcludeerd kan worden dat:

- Thiovit Jet bij 8°C schurft betrouwbaar bestreed met een werkingsgraad van 87% en remde bij dezelfde temperatuur op agar platen met ongeveer 93% de kieming.
- Thiovit Jet bij 0 mm regen geen volledige bescherming boden tegen schurft bij 8 °C.
- bij 40 mm regen nog niet al de zwavel van het blad afgespoeld was.
- bij 5 mm regen meer dan een verdubbeling van de aantasting gevonden werd in vergelijking met 0 mm regen.
- bij de zwavelanalyses een afname gevonden werd in de hoeveelheid zwavel na beregening.



## 6 Referenties

Anonymous, 2001: *Thiovit Jet microbilles*. Vital as the Sun. CD, Syngenta Crop Protection AG, Basel, Zwitserland.

Bloksma, J., 1993: *Zwavel en/of alternatieven tegen schurft in de biologische fruitteelt*. 160p. NRLO-rapport nr. 93/11.

McCallan, S.E.A., 1954: *Isotopes, their use in fungicidal research*. Agr. Chemicals 9 (2), p.52-53 en 119-121.

Tweedy, B.G., 1981: *Inorganic sulfur as a fungicide*. Residue Reviews 78, p.43-68.





## Bijlage I 'Illustraties'



Opgepotte bomen werden aan beide kanten bespoten met zwavel



Na het opdrogen werden de bomen beregend met verschillende hoeveelheden regen



Na verloop van tijd werden bomen weggenomen



Er werden doppen gekozen die minder driftgevoelig waren en een 'gordijn' van water gaven



Na het beregenen werden de opgedroogde bomen met schurftsporen geïnoculeerd

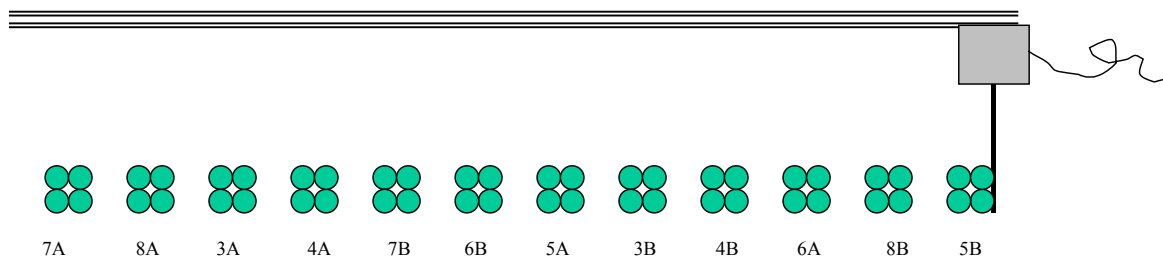


Na ongeveer 3 weken konden de schurftplekken waargenomen worden



## Bijlage II 'Opstelling'

### *Schema van bomenopstelling 2002:*



### *Schema van bomenopstelling 2003:*

Elk vak is een voorraadbak

7A	8A	4A	13A	16A	5A	3B	4B	7B	12B	13B	16B	13C	8C	16C	14C	7C	11C	16D	14D	13D	11D	12D	7D
12A	3A	11A	15A	6A	14A	8B	14B	5B	11B	15B	6B	3C	5C	12C	15C	6C	4C	4D	3D	6D	15D	8D	5D



## Bijlage III 'Volledige dataset'

### Biotoets 2002

<i>Behandeling</i>	<i>Herhaling</i>	<i>Boom</i>	<i>Blad aangetast</i>	<i>Aantal scheuten</i>	<i>Behandeling</i>	<i>Herhaling</i>	<i>Boom</i>	<i>Blad aangetast</i>	<i>Aantal scheuten</i>
1	A	1	1	15	4	B	4	19	16
1	A	2	2	14	5	A	1	9	19
1	A	3	3	16	5	A	2	7	21
1	A	4	6	15	5	A	3	14	17
1	A	5	15	10	5	A	4	4	14
1	B	1	4	19	5	B	1	15	15
1	B	2	2	19	5	B	2	8	16
1	B	3	12	17	5	B	3	16	17
1	B	4	12	19	5	B	4	3	17
1	B	5	27	15	6	A	1	14	9
2	A	1	2	26	6	A	2	12	20
2	A	2	3	25	6	A	3	14	17
2	A	3	2	15	6	A	4	16	18
2	A	4	3	22	6	B	1	1	13
2	B	1	6	16	6	B	2	2	22
2	B	2	0	14	6	B	3	13	14
2	B	3	5	23	6	B	4	8	16
2	B	4	1	22	7	A	1	10	23
3	A	1	4	20	7	A	2	18	18
3	A	2	10	23	7	A	3	15	21
3	A	3	7	12	7	A	4	5	15
3	A	4	10	17	7	B	1	16	15
3	B	1	6	16	7	B	2	12	24
3	B	2	2	17	7	B	3	10	11
3	B	3	10	15	7	B	4	27	17
3	B	4	1	21	8	A	1	24	15
4	A	1	7	19	8	A	2	14	10
4	A	2	12	20	8	A	3	11	8
4	A	3	7	10	8	A	4	13	21
4	A	4	7	17	8	B	1	12	26
4	B	1	3	22	8	B	2	8	18
4	B	2	2	22	8	B	3	22	17
4	B	3	4	23	8	B	4	11	12

### Zwavelanalyse 2002

<i>Behandeling</i>	<i>Herhaling</i>	<i>Bladoppervlakte (cm<sup>2</sup>)</i>	<i>Zwavel g/l</i>	<i>Zwavel per m<sup>2</sup></i>
1	a	2698,28	0	0
1	b	2328,63	0	0
2	a	2586,91	0,149	0,173
2	b	2566,15	0,136	0,159
3	a	3162,58	0,136	0,129
3	b	2421,23	0,121	0,150
4	a	2388,44	0,131	0,165
4	b	2223,69	0,101	0,136
5	a	2417,67	0,117	0,145
5	b	2393,29	0,106	0,133
6	a	2140,96	0,093	0,130
6	b	2037,66	0,1	0,147
7	a	2194,15	0,085	0,116
7	b	2356,04	0,093	0,118
8	a	2928,44	0,091	0,093
8	b	2541,47	0,086	0,102

### Effectiviteit bij 8°C op M9 bomen 2003

<i>Behandeling</i>	<i>Herhaling</i>	<i>Totaal aantal bladeren</i>	<i>Blad met schurft</i>	<i>Blad met schurft per scheut</i>	<i>Index</i>
onbehandeld	a	52	29	4,1	1,6
onbehandeld	b	53	34	4,9	1,74
onbehandeld	c	53	24	3,4	1,26
zwavel	a	55	4	0,6	0,08
zwavel	b	55	4	0,6	0,1
zwavel	c	56	3	0,4	0,06

### Kieming bij 8°C op agar 2003

<i>Concentratie (g/l)</i>	<i>Herhaling</i>	<i>Percentage kieming</i>	<i>Gemiddelde</i>
0	a	84	
0	b	73	
0	c	66	
0	d	76	74,75
4	a	3,75	
4	b	4	
4	c	3	
4	d	9	4,9375
6	a	5	
6	b	6	
6	c	3	
6	d	8	5,5

### Biotoets afregenoef 2003

<i>Behandeling</i>	<i>Herhaling</i>	<i>Regen (mm)</i>	<i>Zwaveltype</i>	<i># scheuten</i>	<i>Totaal # blad</i>	<i># blad schurft</i>	<i>Aantal vlekken</i>
1	A	0	Onbehandeld	10	51	10	38
1	B	0	Onbehandeld	11	69	16	36
1	C	0	Onbehandeld	12	77	17	64
1	D	0	Onbehandeld	10	58	37	78
2	A	0	Thiovit	12	82	0	0
2	B	0	Thiovit	14	78	5	9
2	C	0	Thiovit	11	68	2	2
2	D	0	Thiovit	12	68	0	0
3	A	5,5	Thiovit	9	58	10	19
3	B	5,5	Thiovit	8	49	5	5
3	C	5,5	Thiovit	9	59	5	8
3	D	5,5	Thiovit	9	55	7	9
4	A	10,6	Thiovit	14	83	14	26
4	B	10,6	Thiovit	10	58	7	19
4	C	10,6	Thiovit	12	79	14	48
4	D	10,6	Thiovit	13	74	3	5
5	A	16,3	Thiovit	11	83	8	22
5	B	16,3	Thiovit	14	81	2	5
5	C	16,3	Thiovit	12	58	10	26
5	D	16,3	Thiovit	9	55	7	18
6	A	20,5	Thiovit	8	51	12	31
6	B	20,5	Thiovit	8	45	7	24
6	C	20,5	Thiovit	14	85	23	61
6	D	20,5	Thiovit	10	60	16	67
7	A	31	Thiovit	10	61	9	27
7	B	31	Thiovit	10	53	7	20
7	C	31	Thiovit	14	89	22	106
7	D	31	Thiovit	12	78	6	7
8	A	41,6	Thiovit	15	99	16	39
8	B	41,6	Thiovit	9	47	22	75
8	C	41,6	Thiovit	9	54	6	11
8	D	41,6	Thiovit	11	60	5	9

## Zwavel analyse 2003

Behandeling	Hoeveelheid mm	Herhaling	Concentratie zwavel (g/m <sup>2</sup> )	Gemiddelde
1	0	a	0,00	
1	0	b	0,00	
1	0	c	0,00	
1	0	d	0,00	0,00
2	0	a	0,78	
2	0	b	0,70	
2	0	c	0,88	
2	0	d	0,86	0,81
3	5,5	a	0,46	
3	5,5	b	0,80	
3	5,5	c	0,76	
3	5,5	d	0,77	0,70
4	10,6	a	0,61	
4	10,6	b	0,69	
4	10,6	c	0,57	
4	10,6	d	0,51	0,60
5	16,3	a	0,69	
5	16,3	b	0,57	
5	16,3	c	0,81	
5	16,3	d	0,46	0,63
6	20,5	a	0,53	
6	20,5	b	0,57	
6	20,5	c	0,62	
6	20,5	d	0,53	0,56
7	31	a	0,70	
7	31	b	0,65	
7	31	c	0,78	
7	31	d	0,45	0,65
8	41,6	a	0,56	
8	41,6	b	0,76	
8	41,6	c	0,55	
8	41,6	d	0,55	0,60

## Recovery 2003

### Juni

Sample ID	behr.	conc.	Run Date	Zwavel gram/liter	Zwavel area	Zwavel	% recovery
1 Thio 0			03-07-2003 12:14				
2 Thio 6.25			03-07-2003 12:35	0,00503	132178	8,615	
3 Thio 12.5			03-07-2003 12:57	0,01119	293759	8,605	
4 Thio 25			03-07-2003 13:19	0,02231	585834	8,68	
5 Thio 50			03-07-2003 13:40	0,04581	1202691	8,716667	
6 Thio 100			03-07-2003 14:02	0,09367	2459440	8,74	
7 Thio 200			03-07-2003 14:23	0,18794	4934286	8,731667	
8 Thio 300			03-07-2003 14:45	0,27057	7103854	8,731667	
9 Thio 0			03-07-2003 15:07				
25 17-2	1	0	03-07-2003 20:53				
26 18-3	1	0	03-07-2003 21:14				
27 19-4	1	0	03-07-2003 21:36				
28 20-5	1	0	03-07-2003 21:58				
14 6-6	2	0,0083	03-07-2003 16:55	0,00755	198335	8,728334	91,01205
15 7-7	2	0,0083	03-07-2003 17:16	0,00730	191729	8,751667	87,9759
16 8-8	2	0,0083	03-07-2003 17:38	0,00971	255034	8,781667	117,0361
29 21-9	2	0,0083	03-07-2003 22:19				
30 22-10	2	0,0083	03-07-2003 22:41				

Sample ID	behr.	conc.	Run Date	Zwavel gram/liter	Zwavel area	Zwavel	% recovery Retention Time
11	3-11	3	0,0167	03-07-2003 15:50	0,01516	397905	8,715 90,7485
12	4-12	3	0,0167	03-07-2003 16:12	0,01557	408895	8,718334 93,25749
13	5-13	3	0,0167	03-07-2003 16:33	0,01562	410038	8,725 93,51497
31	23-14	3	0,0167	03-07-2003 23:03	0,02115	555197	8,92 126,6228
32	24-15	3	0,0167	03-07-2003 23:24	0,02032	533472	8,905 121,6707
17	9-16	4	0,0417	03-07-2003 18:00	0,03806	999307	8,79 91,27338
18	10-17	4	0,0417	03-07-2003 18:21	0,03681	966534	8,8 88,28058
19	11-18	4	0,0417	03-07-2003 18:43	0,03724	977815	8,825 89,31175
33	25-19	4	0,0417	03-07-2003 23:46	0,05001	1313097	8,888333 119,9353
34	26-20	4	0,0417	04-07-2003 0:08	0,04941	1297380	8,875 118,4988
20	12-21	5	0,0833	03-07-2003 19:04	0,07539	1979418	8,821666 90,5054
21	13-22	5	0,0833	03-07-2003 19:26	0,08225	2159518	8,843334 98,7407
22	14-23	5	0,0833	03-07-2003 19:48	0,08198	2152342	8,85 98,41297
35	27-24	5	0,0833	04-07-2003 0:29	0,09168	2406982	8,868334 110,0552
36	28-25	5	0,0833	04-07-2003 0:51	0,09054	2377245	8,875 108,6963
10	2-28	6	0,1667	03-07-2003 15:28	0,14742	3870446	8,735001 88,43191
23	15-26	6	0,1667	03-07-2003 20:09	0,14797	3884846	8,888333 88,76125
24	16-27	6	0,1667	03-07-2003 20:31	0,15855	4162803	8,896666 95,11158
37	29-29	6	0,1667	04-07-2003 1:13	0,13713	3600257	8,87 82,25855
38	30-30	6	0,1667	04-07-2003 1:34	0,14710	3862070	8,866667 88,24055

### Augustus

Sample ID	Run Date	Thiovit g/l	thiovit mg/l	verwacht: mg/l
1	Thio 0			
2	Thio 12.5	0,0112	11,232	12,500
3	Thio 25	0,0279	27,898	25,000
4	Thio 50	0,0519	51,872	50,000
5	Thio 100	0,0934	93,416	100,000
6	Thio_B1 200	0,1964	196,409	200,000
7	Thio_B1 200	0,1555	155,548	
8	Thio 280	0,2620	262,022	280,000
9	100	0,0000	0,000	0,000
10	101	0,0000	0,000	0,000
11	102	0,0000	0,000	0,000
12	103	0,0000	0,000	0,000
13	104	0,0000	0,000	0,000
14	105	0,0115	11,526	8,000
15	106	0,0099	9,941	8,000
16	107	0,0091	9,093	8,000
17	108	0,0090	8,955	8,000
18	109	0,0090	8,951	8,000
19	Thio 200	0,1838	183,755	
20	110	0,0310	30,968	28,000
21	111	0,0321	32,069	28,000
22	112	0,0319	31,907	28,000
23	113	0,0306	30,559	28,000
24	114	0,0315	31,477	28,000
25	115	0,0662	66,168	56,000
26	116	0,0672	67,244	56,000
27	117	0,0647	64,657	56,000
28	118	0,0635	63,479	56,000
29	119	0,0653	65,282	56,000
30	Thio 200	0,1933	193,335	



Sample ID	Run Date	Thiovit g/l	thiovit mg/l	verwacht: mg/l
31 120	09-09-2003 20:31	0,1190	118,999	112
32 121	09-09-2003 20:53	0,1229	122,853	112
33 122	09-09-2003 21:14	0,1169	116,858	112
34 123	09-09-2003 21:36	0,1230	123,011	112
35 124	09-09-2003 21:57	0,1248	124,752	112
36 125	09-09-2003 22:19	0,2276	227,645	224
37 126	09-09-2003 22:40	0,2407	240,683	224
38 127	09-09-2003 23:02	0,2240	224,024	224
39 128	09-09-2003 23:23	0,2365	236,520	224
40 129	09-09-2003 23:45	0,2052	205,154	224



# Bijlage IV 'Statistische analyse'

## Biotoets Afregenproef 2002

```
group behmm; factor=fbehmm
tabl [class=herh,fbehmm] tabel
calc aps=aangetastblad/scheuten
tabu aps;means=tabel
vtable [class=Herh,Fbehmm] tabel; Aps

print Herh,Fbehmm,Aps
vari Behmm;!(#Fbehmm)

"Exponential (or asymptotic regression)"
MODEL Aps
TERMS Behmm
FITCURVE [PRINT=model,summary,estimates; FPROB=yes] Behmm

rdisp [prin=accu;fprob=y]
RGRAPH [GRAPHICS=high]
```

Herh	Fbehmm	Aps
A	0.00	0.1167
A	5.20	0.4516
A	9.30	0.5200
A	12.60	0.4791
A	19.70	0.9670
A	29.50	0.6206
A	40.80	1.2485
B	0.00	0.1595
B	5.20	0.3017
B	9.30	0.3972
B	12.60	0.6544
B	19.70	0.3991
B	29.50	1.0160
B	40.80	0.7792

\*\*\*\*\* Nonlinear regression analysis \*\*\*\*\*

Response variate: Aps  
Explanatory: Behmm  
Fitted Curve:  $A + B \cdot R^{**X}$   
Constraints:  $R < 1$

\*\*\* Summary of analysis \*\*\*

	d.f.	s.s.	m.s.	v.r.	F pr.
Regression	2	1.0045	0.50226	14.01	<.001
Residual	11	0.3945	0.03586		
Total	13	1.3990	0.10762		

Percentage variance accounted for 66.7  
Standard error of observations is estimated to be 0.189

\*\*\* Estimates of parameters \*\*\*

	estimate	s.e.
R	0.9667	0.0321
B	-1.099	0.543
A	1.263	0.592

## Hoeveelheid zwavel 2002

```
22 "Simple Linear Regression"
23 MODEL zwavel
24 TERMS behmm
25 FIT [PRINT=model,summary,estimates; CONSTANT=estimate; FPROB=yes; TPROB=yes] behmm
***** Regression Analysis *****
Response variate: zwavel
Fitted terms: Constant, behmm

*** Summary of analysis ***
d.f.          s.s.          m.s.          v.r.  F pr.
```

Regression	1	0.005357	0.0053568	41.45	<.001
Residual	12	0.001551	0.0001292		
Total	13	0.006908	0.0005314		

Percentage variance accounted for 75.7

Standard error of observations is estimated to be 0.0114

\* MESSAGE: The following units have large standardized residuals:

Unit	Response	Residual
3	0.1290	-2.20

\* MESSAGE: The following units have high leverage:

Unit	Response	Leverage
13	0.0932	0.31
14	0.1015	0.31

\*\*\* Estimates of parameters \*\*\*

	estimate	s.e.	t(12)	t pr.
Constant	0.16009	0.00488	32.77	<.001
behmm	-0.001472	0.000229	-6.44	<.001

## Effectiviteit bij 8°C op M9 bomen 2003

\*\*\*\*\* Analysis of variance \*\*\*\*\*

Variate: index

Source of variation	d.f.	s.s.	m.s.	v.r.	F pr.
herh stratum	2	0.06908	0.03454	1.39	
herh.*Units* stratum					
beh	1	3.18622	3.18622	127.78	0.008
Residual	2	0.04987	0.02493		
Total	5	3.30517			

\*\*\*\*\* Tables of means \*\*\*\*\*

Variate: index

Grand mean 0.805

beh onbehandeld	zwavel
1.534	0.076

\*\*\* Standard errors of differences of means \*\*\*

Table	beh
rep.	3
d.f.	2
s.e.d.	0.1289

\*\*\* Least significant differences of means (5% level) \*\*\*

Table	beh
rep.	3
d.f.	2
l.s.d.	0.5547

## Kiëming bij 8°C op agar 2003

\*\*\*\*\* Regression Analysis \*\*\*\*\*

\*\*\* Accumulated analysis of deviance \*\*\*

Change	d.f.	deviance	mean deviance	deviance ratio	approx F pr.
+ herh	3	4.9331	1.6444	1.78	0.251
+ beh	2	657.6523	328.8262	355.73	<.001
Residual	6	5.5462	0.9244		
Total	11	668.1316	60.7392		

\*\*\* Predictions from regression model \*\*\*

These predictions are estimated mean proportions, formed on the scale of the response variable, corresponding to one binomial trial, adjusted with respect to some factors as specified below.

The predictions have been formed only for those combinations of factor levels for which means can be estimated without involving aliased parameters.

The predictions have been standardized by averaging over the levels of some factors:

Factor	Weighting policy	Status of weights
herh	Marginal weights	Constant over levels of other factors

The standard errors are appropriate for interpretation of the predictions as summaries of the data rather than as forecasts of new observations.

```
Response variate: kieming
      Prediction      s.e.
      beh
0.000      0.7475      0.0207
4.000      0.0494      0.0104
6.000      0.0550      0.0109
```

\*\*\*\* Pairwise differences \*\*\*\*  
 \*\*\*\* Regression Analysis \*\*\*\*

```
Response variate: kieming
Binomial totals: totaal
Distribution: Binomial
Link function: Logit
Fitted terms: Constant + herh + beh
```

```
t probabilities of pairwise differences
      0      *
      4      0.000      *
      6      0.000      0.722      *
      0      4      6
```

## Biotoets Afrengenproef 2003

**y-variabele: 'schurftblad'; binomiaal verdeeld met 'totblad' als Nbinomial.**

\*\*\*\* Regression Analysis \*\*\*\*

\*\*\* Accumulated analysis of deviance \*\*\*

Change	d.f.	deviance	mean deviance	deviance ratio	approx F pr.
+ herh	3	4.644	1.548	0.47	0.707
+ behandeld	1	86.111	86.111	25.91	<.001
+ behandeld.middel	1	12.873	12.873	3.87	0.054
+ behandeld.behmm	6	124.320	20.720	6.23	<.001
Residual	52	172.809	3.323		
Total	63	400.757	6.361		

Mean	Thiovit
middel Onbehandeld behmm	*
18.375	1.681
0.00	7.222
5.50	8.024
10.60	8.304
16.30	14.182
20.50	10.956
31.00	12.131
41.60	

\*\*\*\* Nonlinear regression analysis \*\*\*\*

```
Response variate: schurftblad
Binomial totals: totblad
Distribution: Binomial
Nonlinear parameters: b[1], r[1]
Model calculations: afrac2
```

\*\*\* Summary of analysis \*\*\*

	d.f.	deviance	mean deviance	deviance ratio
Regression	4	*	*	
Residual	60	223.2	3.720	
Total	64	*	*	

Dispersion parameter is estimated to be 3.72 from the residual deviance

\* MESSAGE: The following units have large standardized residuals:

Unit	Response	Residual
4	37.00	2.60

\*\*\* Estimates of parameters \*\*\*

	estimate	s.e.
b[1]	-15.86	1.48
r[1]	0.9650	0.0100

**y-variabele: 'schurft\_blad\_per\_scheut'**

\*\*\*\*\* Regression Analysis \*\*\*\*\*

\*\*\* Accumulated analysis of variance \*\*\*

Change	d.f.	s.s.	m.s.	v.r.	F pr.
+ herh	3	0.2877	0.0959	0.40	0.757
+ behandeld	1	6.9300	6.9300	28.57	<.001
+ behandeld.middel	1	0.7926	0.7926	3.27	0.076
+ behandeld.behmm	6	5.6873	0.9479	3.91	0.003
Residual	52	12.6116	0.2425		
Total	63	26.3091	0.4176		

	Mean	
middel	Onbehandeld	Thiovit
behmm		
60.00	1.7013	*
0.00	*	0.2300
5.50	*	0.8032
10.60	*	0.6630
16.30	*	0.7514
20.50	*	1.3146
31.00	*	0.9112
41.60	*	1.1037

\*\*\*\*\* Nonlinear regression analysis \*\*\*\*\*

Response variate: schurft\_blad\_per\_scheut  
 parameters: b[1], r[1]  
 Model calculations: afrac

\*\*\* Summary of analysis \*\*\*

	d.f.	s.s.	m.s.	v.r.
Regression	4	55.22	13.8056	54.31
Residual	60	15.25	0.2542	
Total	64	70.47	1.1012	

Percentage variance accounted for 39.1  
 Standard error of observations is 0.504

\*\*\* Estimates of parameters \*\*\*

	estimate	s.e.
b[1]	-1.349	0.194
r[1]	0.97199	0.00992

**y-variabele: 'aantal vlekken'**

\*\*\*\*\* Regression Analysis \*\*\*\*\*

\*\*\* Accumulated analysis of deviance \*\*\*

Change	d.f.	deviance	mean deviance	deviance approx ratio	F pr.
+ herh	3	18.75	6.25	0.48	0.700
+ behandeld	1	254.98	254.98	19.43	<.001
+ behandeld.middel	1	80.64	80.64	6.15	0.016
+ behandeld.behmm	6	421.97	70.33	5.36	<.001
Residual	52	682.30	13.12		
Total	63	1458.64	23.15		

	Mean	
middel	Onbehandeld	Thiovit
behmm		
0	*	2.38

10,6	*	19.20
16,3	*	22.37
20,5	*	44.58
31	*	33.00
41,6	*	40.77
5,5	*	12.22
60	53.00	*

## Hoeveelheid zwavel 2003

```
126 "General Model."
127 MODEL [DISTRIBUTION=normal; LINK=identity; DISPERSION=*] concentratie
128 TERMS [FACT=9] behandeling*groep+herhaling
129 FIT [PRINT=summary,accumulated; CONSTANT=estimate; FPROB=yes; TPROB=yes; FACT=9]
herhaling
```

```
***** Regression Analysis *****
*** Summary of analysis ***
```

	d.f.	s.s.	m.s.	v.r.	F pr.
Regression	6	0.5767	0.09612	7.69	<.001
Residual	49	0.6121	0.01249		
Total	55	1.1887	0.02161		
Change	-1	-0.0015	0.00152	0.12	0.729

Percentage variance accounted for 42.2

Standard error of observations is estimated to be 0.112

\* MESSAGE: The following units have large standardized residuals:

Unit	Response	Residual
30	0.848	2.51

```
*** Accumulated analysis of variance ***
```

	d.f.	s.s.	m.s.	v.r.	F pr.
Change					
+ herhaling	3	0.07836	0.02612	2.09	0.113
+ behandeling	1	0.14848	0.14848	11.89	0.001
+ groep	1	0.34834	0.34834	27.89	<.001
+ behandeling.groep	1	0.00152	0.00152	0.12	0.729
Residual	49	0.61205	0.01249		
Total	55	1.18875	0.02161		





## Bijlage V 'Routebeschrijving'

Neem vanuit Wageningen de pont bij Lexkesveer, en ga richting Zetten. Blijf de weg volgen tot aan de Linge. Vlak voor de Linge ziet u rechts onze oprit. Vanuit andere richtingen neemt u de A15, afslag Andelst - Zetten. Ga richting Zetten, en volg de richting Wageningen – Lexkesveer. Direct nadat u de Linge oversteekt, ziet u aan uw linkerhand de oprit van het PPO terrein.

